第38卷 第3期 昆 虫 学 报 Vol. 38, No. 3
1995年8月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Aug., 1995

丁布对亚洲玉米螟幼虫中肠组织的影响效果*

阎凤鸣 许崇任 李松岗 林昌善
(北京大学生命科学学院 北京 100871)

环氧肟酸是禾本科植物的一类重要次生代谢产物，丁布(DIMBOA)[2,4-二羟基-7-甲氧基-(2H)-1,4-苯并噁嗪-3-(4H)-酮]是其中的一种，是这些植物对病虫产生抗性的重要因素。已经发现，禾本科植物对许多病虫的抗性与丁布有关，如欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Hübner)，亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée)，玉米小斑病菌 *Helminthosporium turcicum* Pass 等。许多国家已经把玉米的丁布含量作为抗虫育种的主要指标之一。近年来，人们开始研究丁布对昆虫的作用机理，如 Campos 等[1]关于毒力动力学的研究，Cuevas 等[2]和 Houseman 等[3]关于丁布对昆虫胰蛋白酶影响的研究，Feng 等[4]关于丁布对昆虫解毒酶细胞色素 P_{450} 作用效果的研究等。作者以亚洲玉米螟为材料，在生化、生测、组织病理学等方面对此进行了探讨，以期为作物抗虫育种等提供理论依据。本文报道组织病理学方面的结果。

1 材料和方法

1.1 丁布的提取和定性

丁布的提取根据 Tipton 等[5]，Klun 等[6]及 Woodward 等[7]的方法，用红外、紫外和元素分析方法对提取物进行定性。

1.2 试虫处理及石蜡切片制作

亚洲玉米螟幼虫由中国农业科学院植保所玉米螟组提供。将卷心菜叶片剪成1.6cm的叶碟，在400mg/L 丁布的丙酮溶液内蘸 1s(对照组只蘸丙酮)，捞出晾干，让丙酮挥发后，放入指形管(ϕ1.6×长7.2cm)中，每管1片，再放入经饥饿48h的3龄幼虫1头，用脱脂棉塞住管口，在幼虫吃完叶片后，换为正常饲料饲养，并开始计时。24、36、48、72、96、120和144h后分别取出幼虫，从幼虫尾部拉出整个消化道，以包氏(Bouin's)固定液固定18—24h，50%酒精洗数次，70%酒精保存。常规方法制作中肠肠段的石蜡切片(厚度为5—8μm)，苏木精-伊红(H. E.)染色，然后用 Olympus 光学显微镜观察照相。

1.3 中肠细胞 DNA 含量测定(组织化学法)

试虫处理同上。36h后，幼虫消化道用卡诺氏(Carnoy's)固定液固定40min，再用95%酒精冲洗，在75%酒精中保存，常规方法制作中肠肠段石蜡切片，福尔根(Feurgen)染色。在 Univar 显微紫外分光光度计 580nm 处扫描，统计 DNA 含量。

2 结果及分析

2.1 玉米螟中肠组织形态学观察

切片观察(图版I)表明，丁布处理玉米螟后，玉米螟中肠组织发生不正常变化。随着时间的推移，可以看到处理组中肠组织的一系列病变：处理后24h，肠壁开始不规则加厚；48h肠壁再生细胞大量分裂；处理后4—6天，局部组织向肠腔内外增生，组织变得不规则，显得紊乱；肠壁细胞向内外瘤肿，有的呈不规则棒状向肠腔内延伸；局部细胞的膜消失；局部细胞消融；细胞瓦解，余下的细胞膜贴在一起，形成发缕状；细胞大面积消融。

* 国家教委博士点专项基金资助课题。
本文1994年2月收到。

研究表明，丁布对亚洲玉米螟具较强的拒食作用，但上述一系列病变并非拒食饥饿造成的，因为对照组幼虫饥饿 6 天后，中肠组织除稍有失水、皱缩外，并无明显变化(图版 I:B)。证明处理组的病变是丁布的毒性所致。

丁布刺激肠壁再生细胞提前分裂，打破了再生细胞固有的分裂周期，这样，局部细胞提前分裂而又缺乏分化，造成局部瘤肿，继而细胞消融。急剧增长的瘤肿细胞消耗大量的能量，而且，受损的肠壁细胞不再具有分泌消化酶进行消化和吸收营养物质的功能，营养物质的利用率大大降低；再加上由于丁布的拒食作用和对中肠消化水解酶活性的抑制，幼虫获得的营养物质减少，因此幼虫出现严重营养不良、死亡率增加、发育迟缓等现象就是必然的了。

2.2 中肠细胞 DNA 含量测定结果

丁布处理玉米螟后 36h，玉米螟中肠细胞的 DNA 含量大大增加(表 1)，与对照相比较，在 0.01 水平上有极显著差异。说明丁布处理后，中肠细胞的 DNA 提前复制，丁布打破了中肠固有的细胞分裂周期。从切片上可以看到，处理组中肠细胞尤其是再生细胞的细胞核大且浓密。这个结果恰与组织学观察结果相互印证。

表 1　丁布处理后中肠细胞 DNA 含量

	重复数	DNA 含量(相对光密度)
处　理	30	34113.80±2379.30
对　照	35	22255.50±1584.92

3 讨论

植物在长期的自然选择条件下产生了许多防御机制，次生物质是其重要的化学防御手段。次生物质对昆虫的作用，主要表现为拒食作用和毒性作用，或者二者兼而有之。研究表明，丁布对亚洲玉米螟既有拒食作用，又有毒性作用。由于丁布是拒食剂，试验中若将丁布掺入人工饲料，幼虫的取食量不好确定，容易导致试验误差；玉米植株中含有丁布，试验时若以玉米组织作饲料，会干扰试验。因此，本研究采用包心菜叶碟作饲料，叶碟大小一致，在规定时间内取食完叶碟者作为试虫，未取食或未取食完者弃之不用。这样，就保证了试验的准确性。另外，玉米螟属杂食性种类，虽然包心菜不是其主要寄主，但作为试验用饲料，效果很好。

丁布在玉米植株中的含量，随品种、生长阶段、部位、提取方法等而异，一般在 0.1—1.0mg/g 组织鲜重的范围[1,2]，本研究考虑到实际情况，试验中选定 400mg/L 这一浓度(相当于 0.4mg/g)。

丁布对昆虫作用机理的研究就是为抗虫育种提供理论根据；而丁布对昆虫作用方式的最直观的证据就是组织病理学的观察结果。

昆虫的中肠是营养物质消化和吸收的场所，经口进入昆虫体内的毒物往往在中肠起作用，或经中肠进入血液而运输到各目标器官和组织。显然，中肠与生命活动关系巨大。丁布处理后玉米螟中肠的病理学变化，表明丁布对该昆虫具有毒性作用，丁布打破了中肠再生细胞固有的分裂周期，破坏了消化细胞的结构和功能。参照国外同类研究，本研究所用试虫为 3 龄幼虫，低龄幼虫对丁布会更敏感。从这个角度看，利用丁布作为抗螟育种的指标或利用丁布作为新型杀虫剂是可行的。

参　考　文　献

1 Campos F, Atkinson J, *et al*. Toxicokineties of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA) in the European. corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner). J. Chem. Ecol. 1989, 15(7): 1989—2001.

2 Cuevas L, Niemeyer H M, Perez F J. Reaction of DIMBOA, a resistance factor from cereals, with alpha-chymotrypsin. Phytochemistry (Oxford). 1990, 29(5): 1429—1432.

3 Houseman J G, *et al.* Effects of the maize-derived compounds of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Ent. 1992, 85(3): 669—674.
4 Feng R, *et al.* Effect of ingested meridic diet and corn leaves on midgut detoxification processes in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis.* Pesticide Biochemistry and Physiology. 1992, 42(3): 203—210.
5 Tipton C L, Klun J A, *et al.* Cyclic hydroxamic acids and related compounds from m[illegible]. Isolation and characterization. Biochemistry. 1967, 6(9): 1866—2870.
6 Klun J A, Tipton C L, Brindley T A. 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA), an active agent in the resistance of maize to the European corn borer. J. Econ. Entomol. 1967, 60(6): 1529—1533.
7 Woodward M D, Corcuera L J, *et al.* Decomposition of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one in aqueous solution. Plant Physiol. 1978, 61: 796—802.
8 Long B J, Dunn G M, Routley D G. Relationship of hydroxamic acid content in maize and resistance to northern corn leaf blight. Crop Sci. 1975, 15: 333—335.
9 王蕴生，张 荣，关维久. 玉米心叶中丁布 (DIMBOA) 含量和花丝对亚洲玉米螟抗性的初布研究. 吉林农业科学,1985,(3): 66—70.

EFFECTS OF DIMBOA ON THE MIDGUT OF ASIAN CORN BORER, *OSTRINIA FURNACALIS* (GUENEE)

Yan Fengming Xu Chongren Li Songgang Lin Changshan
(College of Life Sciences, Peking University Beijing 100871)